



UJI KEPEKAAN ANTIFUNGI FLUCONAZOLE DAN NISTATIN TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231 DENGAN METODE DIFUSI DISK

Paramita, N. L. P.V.<sup>1</sup>, Trisnadewi, I G.A.A.<sup>1</sup>, Pratiwi, N.P.C.<sup>1</sup>, Dwijayanti, N.M.P.<sup>1</sup>, Ardiyanti, N.L.P.P.<sup>1</sup>, Yustiantara, P. S.<sup>1</sup>, Putra. A.A.G.R.Y.<sup>1</sup>, Wirasuta, I M.A.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Luh Putu Vidya Paramita

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email : putu.vidya.paramita@gmail.com

ABSTRAK

Sejumlah agen antifungi banyak digunakan dalam pengobatan infeksi candida. Obat antifungi fluconazole dan nistatin banyak digunakan dalam pengujian terhadap strain *Candida albicans* menggunakan metode difusi disk. Penggunaan fluconazole dan nistatin memberikan nilai diameter zona hambat yang berbeda ketika diujikan secara *in vitro* dengan metode difusi disk pada 3 strain *Candida albicans*. Tujuan penelitian ini adalah uji kepekaan untuk mendapatkan antibiotik yang positif dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231 beserta dosis efektifnya.

Metode uji antifungi menggunakan Metode Difusi Disk. Sampel uji adalah Fluconazole dengan 6 variasi konsentrasi ( 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 µg/mL) dan Nistatin dengan 6 variasi konsentrasi (200, 250, 300, 350, 400, 450 µg/mL). Aktivitas antifungi ditandai dengan munculnya daerah zona hambatan disekitar disk uji (ukuran 6 mm). Nilai diameter zona hambatan dianalisa secara deskriptif berdasarkan kategori respon hambat dari CSLI yaitu *resistent* ( $\leq 14$  mm), *intermediate* (15 – 19 mm), *susceptible* ( $\geq 20$  mm).

Hasil penelitian menunjukkan Fluconazole mulai memberikan respon hambatan kategori *resistent* terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 pada konsentrasi 512 µg/mL (8,7 mm), kategori *intermediate* pada konsentrasi 1024 µg/mL (16,9 mm), dan kategori *susceptible* pada konsentrasi 2048 µg/mL (23,5 mm). Sedangkan nistatin mampu menghambat *Candida albicans* ATCC 10231 juga dengan kategori resisten mulai konsentrasi 350 µg/mL (6,1 mm), 400 µg/mL (6,7 mm), 450 µg/mL (8,1 mm). fluconazole memiliki kepekaan dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 dengan kategori *susceptible* sehingga dapat direkomendasikan dalam uji antifungi metode difusi disk.

Kata Kunci : Fluconazole, Nistatin, Difusi Disk, *Candida albicans* ATCC 10231

1. PENDAHULUAN

Species *Candida* salah satunya *Candida albicans* merupakan flora normal yang hidup pada mukosa oral, saluran pencernaan dan vagina (Sardi, *et al* 2013). Infeksi vagina dan oral candidiasis diperkirakan terjadi sebanyak 40 juta infeksi per tahunnya (Naglik, *et al*, 2014).

Keadaan Oral candidiasis (OC) dapat mempengaruhi daerah orofaring dan atau esophagus seseorang yang mengalami disfungsi sistem imun (Mayer, *et al* 2013). Sebanyak lebih dari 90 % pasien dengan infeksi HIV diketahui

menderita *oropharyngeal candidiasis* (Coelho, *et al*, 2012).

Sejumlah agen antifungi banyak digunakan dalam pengobatan infeksi candida. Agen antifungi utama yang biasa digunakan pada *oropharyngeal candidiasis* adalah golongan polyene, golongan imidazole, golongan triazole, golongan echinocandins (Johnson and Kauffman, 2003; Bormann and Morrison, 2009; Mario *et al.*, 2012; Coelho, *et al*, 2012).

Salah satu golongan triazole yaitu fluconazole merupakan agen antifungi yang

tetap digunakan sebagai pengobatan lini pertama untuk candidiasis lokal dan sistemik. (Martin, 1999). Selain itu obat lain yang efektif dalam pengobatan candidiasis adalah nistatin. Obat ini efektif dalam pengobatan topikal pada infeksi oral candidiasis (Coelho, *et al*, 2012).

Fluconazole dan nistatin banyak digunakan dalam pengujian terhadap strain *Candida albicans* menggunakan metode disk difusi. Metode ini umumnya sebagai uji kepekaan antimikroba dimana nilai diameter zona hambat merupakan indikator penentu dalam memutuskan kepekaan suatu antibiotika (Cockerill, *et al*, 2012). Pada suatu prosedur uji kepekaan agen antifungi dengan metode difusi disk diperlukan suatu agen antibiotik sebagai kontrol positif. Penggunaan kontrol positif pada penelitian eksperimental untuk menjamin validitas suatu penelitian karena diharapkan memberikan efek positif dalam pengujian tersebut. Berdasarkan penelitian Delic, *et al* (2013) dilaporkan bahwa penggunaan fluconazole dan nistatin memberikan nilai diameter zona hambat yang berbeda ketika diujikan pada 3 strain *Candida albicans*.

Maka pada penelitian ini kami melakukan uji kepekaan untuk mendapatkan antibiotik yang positif dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231 beserta dosis efektifnya.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Bahan

Jamur *Candida albicans* ATCC 10231, Media *Sabourad Dextrose Broth* (SDB) (Merck®), Agar (CONDA®), Fluconazole (Kimia Farma®), Nistatin (Candistin®)

### 2.2 Pembuatan sampel Uji Fluconazole dan Nistatin

Sampel Uji Fluconazole dan Nistatin masing-masing dibuat sebanyak 6 variasi konsentrasi. Pemilihan konsentrasi sampel uji berdasarkan hasil penelitian dari Delic *et al* (2013) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Sampel Uji Fluconazole pertama dibuat dengan konsentrasi 2048 µg/mL kemudian diencerkan sebanyak dua kalinya sampai memperoleh 6 variasi konsentrasi.

Tahap Pembuatan sampel uji Nistatin dengan cara melakukan pengenceran sampel

Candistin sebesar 100 kali, kemudian dari sampel tersebut dibuat larutan stok kerja dengan konsentrasi 600 µg/mL. Sebanyak 6 variasi konsentrasi nistatin diperoleh dari pengenceran larutan stok kerja.

### 2.3 Uji Aktivitas Anti Candida

Uji aktivitas anti candida menggunakan metode difusi disk. Suspensi jamur *C. albicans* ATCC 10231 (0.5 Mc Farland) disebar merata pada media *Sabourad Dextrose Agar* (SDB dan Agar) dengan teknik *swab* sebanyak 3 putaran dengan masing-masing putaran berjarak 60°C (Goldman dan Green, 2009). Kertas cakram (*paper disk*) dibuat menggunakan kertas whatmann no.1 berdiameter 6 mm. Selanjutnya, kertas cakram ditetesi dengan masing masing sampel uji. 6 *paper disk* fluconazole, 6 *paper disk* nistatin, kontrol negatif (CMC-Na 0,5% b/v) ditempelkan pada cawan petri. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Raihana, 2011). Setiap perlakuan di lakukan pengulangan 3 kali.

### 2.3 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif dengan mengkategorikan nilai rata – rata diameter zona hambat sampel uji berdasarkan tabel katagori kekuatan antifungi yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan berdasarkan Clinical and Laboratory Satandard Institute (CLSI) (Cockerill *et al*, 2012).

No	Kode	Keterangan	Diameter Zona hambat (mm)
1	+++	Susceptible	≥ 20
2	++	Intermediate	15 – 19
3	+	Resisten	≤ 14

## 3. HASIL

Uji Kepekaan kedua anti fungi tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Daya hambat Fluconazole dan Nistatin terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Konsentrasi sampel (µg/mL)	Nilai Diameter zona hambat (mm)
----------------------------	---------------------------------

<b>Fluconazole</b>	
64	nd
128	nd
256	nd
512	8,7*
1024	16,9**
2048	23,5***
<b>Nistatin</b>	
200	nd
250	nd
300	nd
350	6,1*
400	6,7*
450	8,1*
<b>Kontrol negatif</b>	nd

Ket : nd = tidak terdeteksi; \**resisten*;  
\*\**intermediate*; \*\*\**susceptible*

Berdasarkan tabel 2. Fluconazole mulai memberikan respon hambatan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 pada konsentrasi 512 µg/mL. sedangkan nistatin mampu menghambat *Candida albicans* ATCC 10231 mulai konsentrasi 350 µg/mL. Respon hambatan yang dihasilkan oleh Nistatin memberikan efek resisten terhadap fungsi *Candida albicans* ATCC 10231, berbeda halnya dengan Fluconazole yang mampu menghasilkan respon hambat dengan kategori *susceptible* pada konsentrasi 2048 µg/mL.

#### 4. PEMBAHASAN

Tujuan uji kepekaan antimikroba adalah untuk memberikan data in vitro mengenai ketepatan dan kemampuan antimikroba sehingga mendapatkan jaminan pengobatan yang optimal. Prinsip uji kepekaan dengan metode difusi disk adalah penggunaan *paper disk* yang telah diberi sejumlah sampel/antibiotik, antibiotik tersebut akan berdifusi keluar dari disk membentuk *gradient* konsentrasi dan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang ada di permukaan agar dan menghasilkan zona hambatan. Karena difusi disk berdasarkan pada perubahan *gradient* konsentrasi, maka variasi densitas inokulum sangat mempengaruhi ukuran zona hambatan yang dihasilkan dengan tidak

memperhatikan kepekaan mikroorganisme uji (Wanger, 2009).

Hasil pada penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilaporkan oleh Delic, *et al* (2013), dimana pada penelitian tersebut fluconazole 2000 µg/mL tidak memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Sedangkan nistatin dilaporkan pada konsentrasi 200 dan 250 µg/mL mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231. Perbedaan hasil respon hambat dari kedua antifungi terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Pada penelitian ini suspensi jamur *Candida albicans* yang digunakan lebih besar yaitu 0.5 Mc Farland ( $1.5 \times 10^8$  CFU/mL) dibandingkan penelitian Delic, *et al* (2013) yaitu  $1.5 \times 10^6$  CFU/mL. Selain itu faktor lain yang memungkinkan perbedaan hasil adalah, penelitian ini menggunakan jenis obat antifungi yang berasal dari pabrik yang berbeda dengan jenis obat antifungi pada jurnal referensi.

Berdasarkan CSLI, Kelompok antifungi golongan amphotericin dan golongan azoles memang dilaporkan sebagai antifungi yang mampu menghambat pertumbuhan Spesies *Candida* sebanyak berturut turut 100 % dan 80 % (Wanger, 2009).

#### 5. KESIMPULAN

Antibiotik yang peka dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 dan memberikan respon hambat dengan kategori *susceptible* adalah fluconazole dengan dosis uji efektif yaitu 2048 µg/mL.

#### 6. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana karena dana DIPA PNBPN.

#### DAFTAR PUSTAKA

Coelho, J.M, Claudino, A.L.R., Chavasco, J.M., Birman, E.G., Gambale, W., Aleva, N.A., Dias, A.L.T., Paula, C.R., dan Chavasco, J.K., 2012, Antifungal susceptibility evaluation of *Candida albicans* isolated from buccal lesions of hiv-positive and HIV-

- negative patients, *Três Corações*, 10(1): P. 156-166
- Naglik, J.R., Richardson, J.P., dan Moyes, D.L., 2014, *Candida albicans* Pathogenicity and Epithelial Immunity, *PLOS Pathogens*, 10 (8) : p. 1-4
- Sardi, J.C.O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A.M., dan Mendes Giannini, M. J. S., 2013, *Candida* Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products And New Therapeutic Options, *Journal of Medical Microbiology*, 62, hal 10–24
- Martin, M.V., 1999, The use of fluconazole and itraconazole in the treatment *candida albicans* infections: a review, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (44) : 429-437
- Mayer, F.L., Wilson, D., dan Hube, B., 2013, *Candida albicans* pathogenicity mechanisms, *Virulence*, 4(2): 119–128;
- Mario, D. A.N., Denardi, L. B., Bandeira, L. A., Antunes, M. S., Santurio, J. M., Severo, L. C., Alves, S. H., 2012, The activity of echinocandins, amphotericin B and voriconazole against fluconazole-susceptible and fluconazoleresistant Brazilian *Candida glabrata* isolates. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107
- Johnson, L.B., dan Kauffman, C.A., 2003, Voriconazole: a new triazole antifungal agent, *Clinical and Infectious Disease*, 36: 630-637
- Bormann, A.M. dan Morrison, V.A., 2009, Review of the pharmacology and clinical studies of micafungin. *Journal of Drug Design, Development and Therapy*, 3: 295-302
- Dafina N. Delić, Jelica R. Skrobonja, Maja A. Karaman, Milan N. Matavulj, Mirjana A. Bogavac, 2013, Antifungal Activity Of Essential Oils Of *Origanum Vulgare* and *Rosmarinus Officinalis* Against Three *Candida Albicans* strains, *Jour Nat Sci*, 124: 203—211
- Cockerill, F.R., Matthew A. W., Jeff A., Michael N. D., George M. E., Mary J. F., *et al.*, 2012., Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute., p. 1-4
- Wanger, A., 2009, Antibiotic susceptibility Testing, in: Goldman, E., dan Green, L.H., *Practical Handbook of Microbiology*, 2<sup>nd</sup> Ed., New York, CRC Press, p. 149 - 154